



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of: Murata et al.	
	Art Unit: 1614
Application No.: 10/720,169	Examiner: [to be assigned]
Filing Date: November 25, 2003	Atty. Docket: US-113
Title: Drug product for intestinal disease	

CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. § 119 IN UTILITY APPLICATION

Commissioner of Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450


Sir:

Priority under 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed to the following priority document(s), filed in a foreign country within one (1) year prior to the filing of the above-referenced United States utility patent application (35 U.S.C. § 172):

Country	Priority Document Appl. No.	Filing Date
Japan	2001-166982	June 1, 2001

A certified copy of each listed priority document is submitted herewith. Prompt acknowledgment of this claim and submission is respectfully requested.

Respectfully submitted,



Shelly Guest Cermak
Reg. No. 39,571

Date: March 25, 2004

PTO Customer Number: **000038108**
Ajinomoto Corporate Services, LLC
1120 Connecticut Avenue
Ste. 1010
Washington, D.C. 20036
202.457.0284

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年 6月 1日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-166982

[ST.10/C]:

[JP2001-166982]

出 願 人

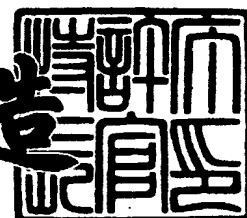
Applicant(s):

味の素株式会社

2002年 1月11日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3114643

【書類名】 特許願

【整理番号】 P6756AJ

【提出日】 平成13年 6月 1日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61P 1/00
A61K 35/78 ACJ

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

【氏名】 村田 幸恵

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

【氏名】 羽室 淳爾

【特許出願人】

【識別番号】 000000066

【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】

【識別番号】 100080229

【弁理士】

【氏名又は名称】 石田 康昌

【電話番号】 045-476-1131

【選任した代理人】

【識別番号】 100080816

【弁理士】

【氏名又は名称】 加藤 朝道

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 059042

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9803677

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 腸疾患用の薬剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

5000～20000の分子量を有する植物由来の β （1→3）グルカンを含む有効成分として含有することを特徴とする腸疾患の予防、改善及び／又は治療用薬剤。

【請求項 2】

当該植物がきのこ類である請求項 1 記載の薬剤。

【請求項 3】

当該 β （1→3）グルカンが、グルカンの加水分解により得られたものである請求項 1 又は 2 記載の薬剤。

【請求項 4】

当該 β （1→3）グルカンが、きのこの水抽出物から得られたものである請求項 1～3 何れか記載の薬剤。

【請求項 5】

きのこの水抽出物から得られたものが、きのこの水抽出－アルコール沈殿物から得られたもの又は当該沈殿物を更に分解して低分子量化したものである請求項 4 記載の薬剤。

【請求項 6】

経口投与用である請求項 1～4 何れか記載の薬剤。

【請求項 7】

当該腸疾患が炎症性腸疾患である請求項 1 記載の薬剤。

【請求項 8】

5000～20000の分子量が平均分子量で表して5000～20000の分子量である請求項 1 記載の薬剤。

【請求項 9】

きのこ類がシイタケである請求項 2 記載の薬剤。

【請求項 10】

健康食品の形態にある請求項1記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は腸疾患、特に炎症性腸疾患に有効な腸疾患の予防、改善及び／又は治療に適した新規薬剤に関する。本発明においては安全性が高く経口投与が可能であり、広く多くの患者に簡便に適用することができる。

【0002】

【従来技術】

腸疾患、特に炎症性腸疾患は近年患者数が増え医療現場でその予防、治療の必要性が高まっている疾患である。腸内細菌の偏在、免疫学的不全が疾患の原因として想定されているが、その発症原因、病態増悪機序の何れも定かではない。炎症性腸疾患の代表である潰瘍性大腸炎とクローン病の間には病態に大きな差異が認められるが、液性免疫亢進の関与が前者で高く、細胞性免疫の亢進が後者で高いとされているが詳細は不明である。従って、本疾患を予防したり、病態を改善する手段は限られ満足できるものではない。特に予防の観点では医療現場のニーズを満足させるものは提供されていないと言って過言ではない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

以上のような状況下に、腸疾患用の薬剤、特に炎症性腸疾患を対象に広く使用でき、副作用が殆ど無く経口投与で効果を示し、多くの患者に簡便に使用できる薬剤や予防食品の開発が求められている。本発明の課題はこのような薬剤や予防食品を開発することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は上記課題解決に向けて鋭意研究を重ねた結果、特定の分子量を有する植物由来の β (1→3) グルカン自由飲水で与えたマウスによるモデル動物試験で前記目的とする薬効を有することを見出し、目的とする腸疾患の予防、

改善及び治療等用の薬剤として使用できることを見出し、これらの知見に基づいて本発明を完成するに到った。

【0005】

即ち、本発明は5000～20000の分子量を有する植物由来の β （1→3）グルカンを含む有効成分として含有することに特徴を有する腸疾患の予防、改善及び／又は治療用薬剤に存する。

【0006】

【発明の実施の形態】

以下に本発明の実施の形態について説明する。

【0007】

本発明の薬剤を投与する対象については、腸疾患、特に炎症性腸疾患の予防、改善、治療等を求めるものであれば特に制限は無いが、哺乳動物、通常はヒト（患者）に対して適用される。

【0008】

本発明の薬剤が適用される腸疾患については制限は無いが、クローン病、潰瘍性大腸炎で代表される炎症性腸疾患が特に有効である。

【0009】

本発明の薬剤に使用する有効成分には5000～20000の分子量を有する植物由来の β （1→3）グルカンを使用する。平均分子量で表して5000～20000の分子量を有する成分を主成分として使用するのが簡便である。そのような分子量の範囲のグルカンを調製するのに、より高分子量のグルカンを加水分解、例えば、 β -（1-3）グルカナーゼで酵素分解したものや、蟻酸等で化学分解処理したもの、物理的な方法で低分子化したものを採用することもできる。

【0010】

本発明において、「 β （1→3）グルカン」には β （1→3）結合を有するグルカンは勿論、 β （1→3）グルコシド結合を主鎖とするグルカンも含まれる。

【0011】

植物由来の β （1→3）グルカンとしてはマツタケ、シイタケ、ぶくりょう、カワラタケ、エノキダケ、ヒラタケ、ヤマブシタケ、アガリクスきのこ等のきの

こ類から得られる β (1 \rightarrow 3) グルカンを使用することができる。そのような成分をきこの類から調製するには、例えば水（熱水等）の抽出物もしくは本抽出物をアルコール（エタノール等）による沈殿により得られたものから、必要により低分子化することにより容易に調製することができる。分子量を前記範囲に調整するには適当な方法で加水分解（酵素分解、蟻酸など酸による加水分解、物理的处理による分解等）する方法を挙げることができる（佐々木等, Gann, 67, 191~195, 4月, 1976年参照。）。

【 0 0 1 2 】

本発明になる薬剤の特徴の一つに経口投与でも優れた効果を示すこと、インスリン依存性の糖尿病疾患（N I D D M）にも効果があり、安全で肥満の影響も受けない。従って、投与形態については特に制限は無い。経口投与、非経口投与（静脈投与等）各種の投与形態が採用可能であり、炎症性腸疾患患者に広くしかも簡便に適用することができる。安全性や経口投与に適していることからそのような疾患に対する予防、改善のために、或いは腸に疾患を有する患者に対し健康食品や医療食品の形で使用することも可能である。またこれら疾患のハイリスク患者に広く予防、治療的にしかも簡便に適用することができる。

【 0 0 1 3 】

本発明においては、他の薬剤成分（医薬活性物質）と共に、例えば混合又は組み合わせで使用することができ、このような場合本発明で目的とする有効成分を含み目的とする前記薬理活性を示すものであれば本発明の薬剤に含まれる。

【 0 0 1 4 】

その他、薬理学的に許容し得る各種の製剤用物質（補助剤等として）を含むこともできる。製剤用物質は製剤の剤型により適宜選択することができるが、例えば、賦形剤、希釈剤、添加剤、崩壊剤、結合剤、被覆剤、潤滑剤、滑走剤、滑沢剤、風味剤、甘味剤、可溶化剤等を挙げることができる。更に、製剤用物質を具体的に例示すると、炭酸マグネシウム、二酸化チタン、ラクトース、マンニトール及びその他の糖類、タルク、牛乳蛋白、ゼラチン、澱粉、セルロース及びその誘導体、動物及び植物油、ポリエチレングリコール、及び溶剤、例えば滅菌水及び一価又は多価アルコール、例えばグリセロールを挙げることができる。

【 0 0 1 5 】

本発明の薬剤は、前述の如く公知の又は将来開発される様々な医薬製剤の形態、例えば、経口投与、腹腔内投与、経皮的投与、吸入投与等各種の投与形態に調製することができる。本発明の薬剤をこれら様々な医薬製剤の形態に調製するためには公知の又は将来開発される方法を適宜採用することができる。

【 0 0 1 6 】

これら様々な医薬製剤の形態として、例えば適当な固形又は液状の製剤形態、例えば顆粒、粉剤、被覆錠剤、錠剤、（マイクロ）カプセル、坐剤、シロップ、ジュース、懸濁液、乳濁液、滴下剤、注射用溶液、活性物質の放出を延長する製剤等を挙げることができる。

【 0 0 1 7 】

以上に例示した製剤形態にある本発明の薬剤には、薬効を奏するに有効な量の前記成分を含有すべきことは当然のことである。

【 0 0 1 8 】

本発明の薬剤の投与量については、腸疾患の程度や重症度、種類、製剤の形態等に応じて適当に選択される。例えば、経口投与で患者1日当たり、有効成分の正味重量で表して好ましくは10mg～10g程度、より好ましくは100mg～5g程度、更に好ましくは500～2000mg程度投与することができる。また、重篤な場合には更に増量することもできる。投与の回数、時期については、数日に1回でも、また1日1回でも可能であるが、通常は1日当たり数回、例えば2～4回に分けて投与される。また、静脈投与の場合には上記経口投与に比べて十～二十分の一程度の投与量でも良い。

【 0 0 1 9 】

その予防も含めて広く前記腸の疾患改善の目的で或いはそのような疾患を既に有する患者に食事を提供する目的で、健康食品、医療用食品、特定保健食品等として本発明の薬剤を使用することができるが、このような健康食品等に使用する場合にも上記経口投与製剤を参考に健康食品等として必要であり経口摂取可能な成分、添加剤を加えて調製することができる。その場合、食品（チューインガムや歯磨き等口に入れるものは全て含まれる。）並びに栄養剤、輸液製剤等の形態

で提供することも可能であり、これらも当然本発明の薬剤の使用に含まれる。医療用食品等は固形状物であっても液状物であってもよく、その形態を問わない。

【 0 0 2 0 】

尚、本発明において低分子量の β (1 \rightarrow 3) グルカンが腸疾患に対して作用する機作は次の通りと推測している。 β (1 \rightarrow 3) グルカンは主として炎症性細胞のうちマクロファージを標的として作用すると考えられる。炎症性腸疾患の腸管粘膜にはマクロファージの著明な浸潤が認められるが、このマクロファージが腸内細菌に対する免疫応答を強めると考えられる。 β (1 \rightarrow 3) グルカンはマクロファージに作用してその免疫応答増強作用を抑制すると考えられる。

【 0 0 2 1 】

【実施例】

以下、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、この実施例により本発明は何等制限されるものではない。この実施例において使用される%値は、特に説明が無い限り重量%で示されている。

【 0 0 2 2 】

(試料及び実験動物)

1. デキストラン硫酸 (DEXTRAN SODIUM SULFATE; ICN社製「Cat 160110」)
2. C57/BL6 マウス雌13週齢 (日本チャールスリバー製)

【 0 0 2 3 】

(きのこ熱水抽出物の蟻酸分解物の調製)

1) 60分間加水分解物

還流冷却器、温度計、メカニカルスターラーを設置した2リットルの丸底三頸フラスコにドライLを31.0g秤取り、80%蟻酸620mlを加え、予め100℃に加熱したオイルバス中で攪拌した。20分間で反応液の温度が90℃に到達し、更に60分間、攪拌を続けた。その後、反応容器を氷-水浴中に浸して反応を停止した。反応液を室温まで冷却して得られる茶褐色のゲル状物質を2リットルのナス型フラスコに移し変え、溶媒を減圧下に留去してニカワ状の固形物50.4gを得た。これに純水2リットルを加え、水浴中60℃まで加温して固形物を可能な限り溶解し、静置して清澄な上澄み液をデカンテーションによって

分離した。繊維状の固形物が残存する不溶部に純水 800 ml を加え、家庭用ミキサーを用いて 60 分間混合・粉碎を行った。これに先の上澄み液を加え、更に超音波浴中で超音波処理して、均一な懸濁液を得た。得られた懸濁液をドライアイス-アルコール浴中で急速凍結した後、凍結乾燥し、固形物 30.4 g を得た。そのものの 0.22% (重量) 懸濁液の pH 値は 4.51 であった。平均分子量は 12200 であった。

【0024】

尚、ドライ L は生シイタケ (*Lentinus edodes*) 子実体 1 kg を熱水 5000 ml に溶解しエタノール 5000 ml で沈殿化 (320 g) したものである。

【0025】

2) 3.0 分間加水分解物

上記 60 分間加水分解物の調製法のうち、90℃到達後の加熱時間を 30 分とし、それ以外は上記と同様の操作を行った。固形物 30.8 g を得、その 0.22% (重量) 懸濁液の pH 値は 4.86 であった。平均分子量は 25000 であった。

【0026】

(きのこ熱水抽出物の酵素分解物の調製)

還流冷却器、温度計、メカニカルスターラーを設置した 2 リットルの丸底三頸フラスコに生シイタケ熱水抽出物を 30.0 g 秤取り、滅菌水 2 L に溶解し、市販 β -(1-3) グルカナーゼを添加し 30℃で攪拌、反応させた。60 分間、反応を続けた。その後、反応容器を氷-水浴中に浸して反応を停止した。反応液を 5 リットルのナス型フラスコに移し変え、溶液を減圧下に留去、固形物が析出する寸前に留去を停止した。清澄な上澄み液を分離した後に、更に超音波浴中で超音波処理して、均一な清澄液を得た。得られた液をドライアイス-アルコール浴中で急速凍結した後、凍結乾燥し、固形物 32.4 g を得た。そのものの 0.22% (重量) 懸濁液の pH 値は 6.52 であった。平均分子量は 9200 であった。

【0027】

(ドライ L 加水分解物 0.02 重量%水溶液の調製)

ドライ L 60 分蟻酸加水分解物又はドライ L 30 分蟻酸加水分解物 2 g を 1 リットルの滅菌水（2 回蒸留後ミリポアフィルターにて濾過）に溶解して pH 値を測定した。1 規定の水酸化ナトリウム水溶液で pH 値 7.0 付近へ調整し、ドライ L 0.02 重量%水溶液を調製した。

【0028】

（ドライ L 0.1 重量%水溶液の調製）

ドライ L 60 分蟻酸加水分解物 1 g を 1 リットルの滅菌水に溶解して pH 値を測定した。1 規定の水酸化ナトリウム水溶液で pH 値 7.0 付近へ調整し、ドライ L 0.1 重量%水溶液を調製した。

【0029】

（1 %DSS水溶液の調製）

デキストラン硫酸ナトリウム塩 10 g を 1 リットルの滅菌水に溶解して 1 %DSS水溶液を調製した。

【0030】

（実施例 1）

炎症性腸疾患（DSS誘導炎症性腸疾患）モデルを用いたドライ L 経口摂取薬効検
定

ドライ L 分解物の経口摂取により DSS誘導炎症性腸疾患は抑制されるのが確かめられた。以下、具体的に説明する。

【0031】

炎症性腸疾患（以下、「IBD」と称する。）モデルとして、マウスにデキストラン硫酸（以下、「DSS」と称する。）水溶液を飲水させる系が知られている。この系を用い、ドライ L 60 分蟻酸分解物水溶液を前投与することで発症が抑制若しくは促進されるかの検討を行った。

【0032】

IBDを発症すると、体重の減少が起こる。発症の指標として、血便、体重減少及び生存率を用い検討した。

【0033】

C57/BL6 雌 13 週齢より、ドライ L 60 分蟻酸分解物水溶液、ドライ L 30

分蟻酸分解物水溶液、対照として滅菌水を、それぞれ飲水させ、飲水開始10日目、DSS1%水溶液に切り換え、週1回体重測定を行い、逐次生存の確認を行った。

【0034】

DSS1%水溶液切り換え10日目の体重減少は、対照群16%に比べ、ドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群12.5%とドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群で有意に低いことが確認された(図1b参照。)。DSS1%水溶液切り換え34日目の発症率(血便発生率)は対照群100%に比べ、ドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群で37%とドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群で、有意に発症の抑制が確認された。また、ドライL30分蟻酸分解物水溶液飲水群において、発症率75%と発症の抑制が確認された(図1a参照。)

【0035】

DSS1%水溶液切り換えより34日目にDSS2%水溶液に切り換えた。DSS2%水溶液への切り換えより11日目の生存率は、対照群0%に比べ、ドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群100%と、ドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群において著明な発症の抑制が確認された(図2参照。)。また、DSS2%水溶液への切り換えより7日目までの体重変化は、切り換え開始時の体重を1とした割合をとると、対照群で0.8に対して、ドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群0.9とドライL60分蟻酸分解物水溶液飲水群の体重減少は対照群より少なく、IBD発症が抑制されることが確認された(図3参照。)

【0036】

以上の結果から明らかな如く、IBD(炎症性腸疾患)モデルにおいて、ドライL60分蟻酸分解物水溶液の飲水により、炎症性腸疾患が有意に抑制されることが確認された。

【0037】

(実施例2)

炎症性腸疾患(DSS誘導炎症性腸疾患)モデルを用いたきのこ酵素分解物の経口摂取薬効検定

シイタケ熱水抽出物の酵素分解物の経口摂取によりDSS誘導炎症性腸疾患は抑

制されるのが確かめられた。以下、具体的に説明する。

【 0 0 3 8 】

炎症性腸疾患（以下、「IBD」と称する。）モデルとして、マウスにデキストラン硫酸（以下、「DSS」と称する。）水溶液を飲水させる系が知られている。この系を用い、シイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液を前投与することで発症が抑制若しくは促進されるかの検討を行った。

【 0 0 3 9 】

C57/BL6 雌 1 3 週齢より、シイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液、対照として滅菌水を、それぞれ飲水させ、飲水開始 1 0 日目に DSS 1 % 水溶液に切り換え、週 1 回体重測定を行い、逐次生存の確認を行った。

【 0 0 4 0 】

DSS 1 % 水溶液切り換え後 1 0 日目の体重減少は、対照群 1 9 % に比べ、シイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液 9 . 5 % とシイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液飲水群で有意に低いことが確認された。DSS 1 % 水溶液切り換え 3 0 日目の発症率（血便発生率）は対照群 1 0 0 % に比べ、シイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液飲水群で 1 7 % とシイタケ熱水抽出物酵素分解物水溶液飲水群で、有意に発症の抑制が確認された。

【 0 0 4 1 】

以上の結果から、酵素分解物水溶液の飲水により、炎症性腸疾患が対照群と比較して有意に抑制されることが理解される。

【 0 0 4 2 】

【発明の効果】

本発明によれば、腸疾患、特に炎症性腸疾患用の薬剤として使用でき、副作用が殆ど無く経口投与でも優れた効果を示し多くの患者に簡便に使用できる腸疾患の予防、改善、治療等に適した薬剤を提供することができる。

【 0 0 4 3 】

安全性にも優れており、健康食品の形態でも提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 a は、実施例 1 において IBD（炎症性腸疾患）の発症率（％）（DSS 1 % 水溶液切り換え 3 4 日目）を図示したものである。

図 1 b は、実施例 1 において体重減少率（％）（DSS 1 % 水溶液切り換え 1 0 日目）を図示したものである。

図 1 a 及び図 1 b において、横軸は左側から順に、対照、ドライ L 6 0 分蟻酸分解物及びドライ L 3 0 分蟻酸分解物を表す。

【図 2】

図 2 は、実施例 1 において DSS 2 % 水溶液切り換え後の生存率（％）を図示したものである。

□：対照；●：ドライ L 6 0 分蟻酸分解物；△：ドライ L 3 0 分蟻酸分解物。

【図 3】

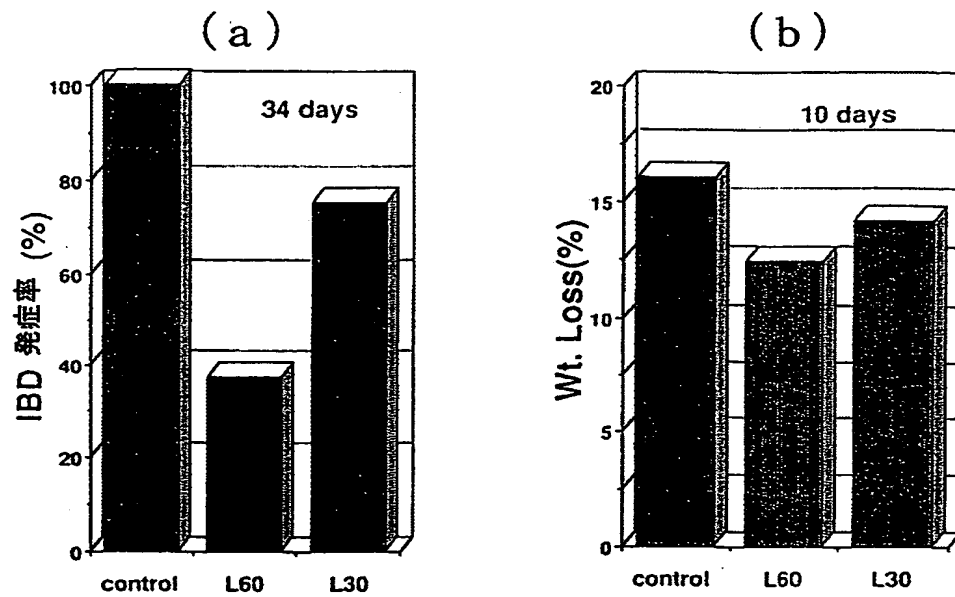
図 3 は、実施例 1 において DSS 2 % 水溶液切り換え後の体重変化を図示したものである。

縦軸：DSS 2 % 水溶液へ切り換え開始時の体重を 1 としたときの割合。

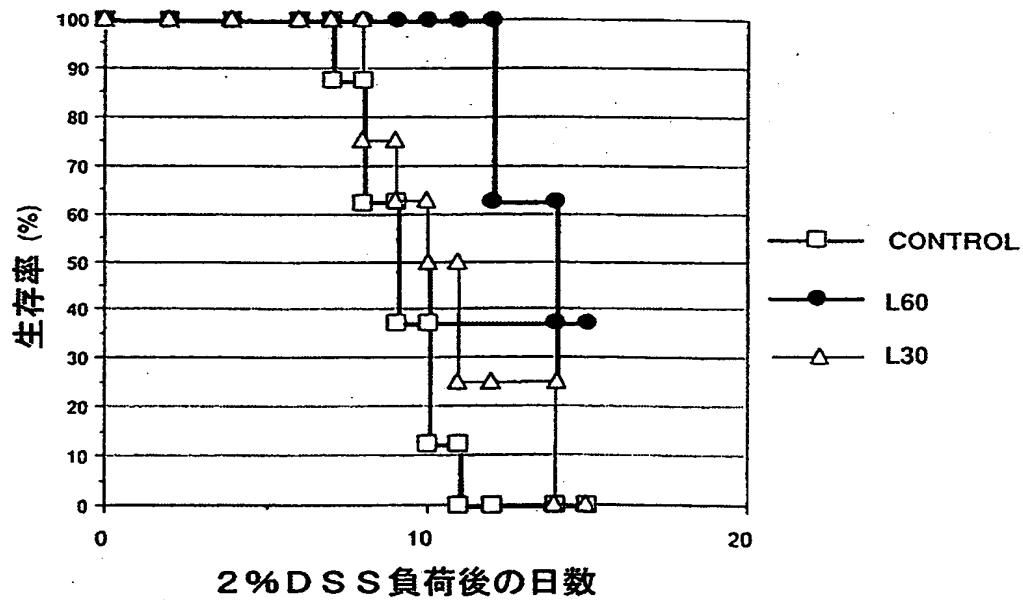
□：対照；○：ドライ L 6 0 分蟻酸分解物；●：ドライ L 3 0 分蟻酸分解物。

【書類名】 図面

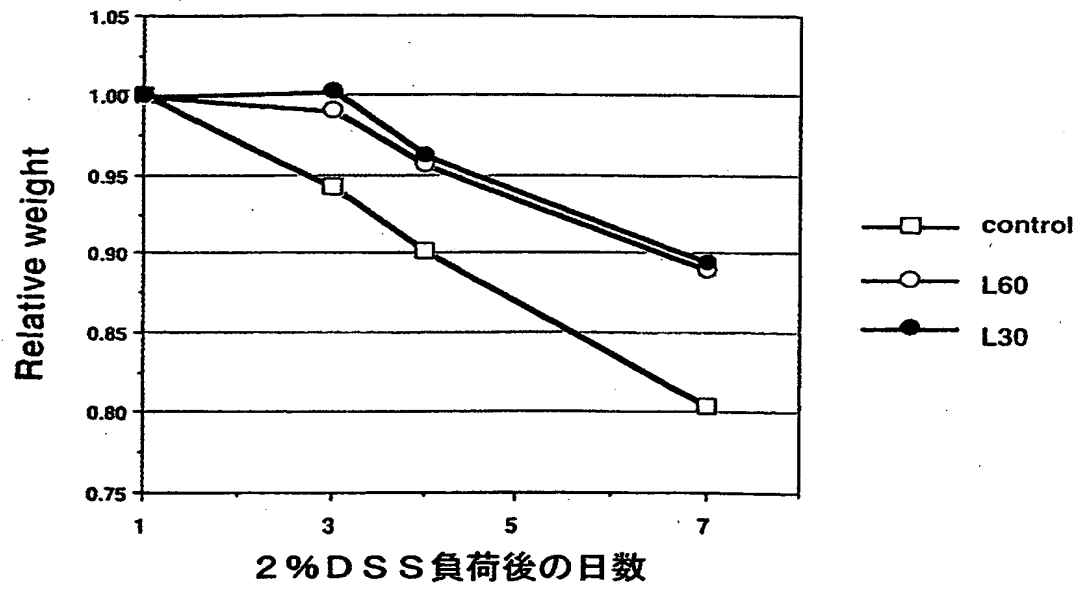
【図1】



【図2】



【図3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

各種腸疾患用の薬剤、特に炎症性腸疾患として広く使用でき、副作用が殆ど無く経口投与でも効果を示し多くの患者に簡便に使用できる腸疾患の予防、改善、治療等に優れた薬剤を提供する。

【解決手段】

5000～20000の分子量を有する植物由来の β （1→3）グルカンが上記目的とする効果を示し、これを有効成分として含有する腸疾患の予防、改善及び／又は治療用薬剤を提供する。

経口投与が可能で、健康食品の形態でも使用可能である。

【選択図】

なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0000000066]

1. 変更年月日	1991年 7月 2日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都中央区京橋1丁目15番1号
氏 名	味の素株式会社